

УДК 612.827:611.817.1-02:616-001.17]-092.9
DOI 10.11603/bmbr.2706-6290.2021.2.12340

Н. В. Огінська, З. М. Небесна

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

МІКРОСКОПІЧНІ ЗМІНИ НЕЙРОЦИТІВ КОРИ МОЗОЧКА В ДИНАМІЦІ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРМІЧНОЇ ТРАВМИ

Мікроскопічні зміни нейроцитів кори мозочка в динаміці за умов експериментальної термічної травми

Н. В. Огінська, З. М. Небесна

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

Резюме. Термічна травма як стрес-чинник екзогенного походження, при якому відбувається розвиток поліорганної недостатності та порушення функціонування органів та систем організму. Нервова система одна із перших сприймає і дає відповідь на больові імпульси. Важливим є реорганізація усіх структурних компонентів мікроциркуляторного русла та нейроцитів у результаті ендогенної інтоксикації, яка розвивається при термічній травмі. Мішенню при ураженні виступає мозочок як поліфункціональний орган центральної нервової системи.

Мета дослідження – встановити мікроскопічну реорганізацію нейроцитів кори мозочка у динаміці за умов експериментальної термічної травми шкіри.

Матеріали і методи. Експериментальне дослідження виконано на 24 статевозрілих білих щурів масою 180–200 г. Моделювання опіку III ступеня здійснювали мідними пластинами, які нагріті у кип'яччій воді до температури 97–100° на епіловану поверхню шкіри тварин під тіопентал-натрієвим наркозом. Розміри ділянок ураження склали 18–20 % тіла щурів. Забір матеріалу для мікроскопічного дослідження проводили відповідно до загальноприйнятих методик. Гістологічні зрізи, отримані на санному мікромомі товщиною 5–6 мкм, забарвлювали гематоксином та еозином, толуїдиновим синім за методом Ніссля. Напівтонкі зрізи, виготовлені на ультрамикромомі LKB-3, забарвлювали метиленовим синім. Мікропрепарати вивчали за допомогою світлового мікроскопа MICROMed SEO SCAN та фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera з системою виводу зображення з гістологічних препаратів.

Результати. Мікроскопічні дослідження показали взаємозалежність між терміном експерименту та порушеннями у структурних компонентах нейроцитів усіх шарів кори мозочка. У ранні терміни дослідження відбуваються реактивні зміни, які носять пристосувально-компенсаторний характер із початковими деструктивними ушкодженнями. На 14 добу, а особливо через 21 добу спостерігаються поліморфізм, значна дегене-

Microscopic changes in the neurocytes of the cerebellar cortex in dynamics under conditions of experimental thermal injury

N. V. Ohinska, Z. M. Nebesna

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

e-mail: nebesna_zm@tdmu.edu.ua

Summary. Thermal injury as a stress factor of exogenous origin, in which the development of multiple organ failure and dysfunction of organs and systems of the body occur. The nervous system is one of the first to perceive and respond to pain impulses. It is important to reorganize all the structural components of the microcirculatory tract and neurons as a result of endogenous intoxication, which develops during thermal trauma. The target of lesions is the cerebellum, as a multifunctional organ of the central nervous system.

The aim of the study – to establish the microscopic reorganization of neurocytes of the cerebellar cortex in the dynamics under conditions of experimental thermal trauma to the skin.

Materials and Methods. The experimental study was performed on 24 adult white male rats weighing 180–200 g. Simulation of third-degree burns was performed with copper plates heated in boiled water to a temperature of 97–100° on the epilated surface of the skin of animal bodies under thiopental sodium. The size of the affected areas was 18–20 % of the body of rats. Collection of material for microscopic examination was performed in accordance with generally accepted methods. Histological sections obtained on a sled microtome 5–6 μm thick were stained with hematoxylin and eosin, toluidine blue by the method of Nissl. Semi-thin sections made on an ultramicrotome LKB-3 were stained with methylene blue. The micropreparations were studied using a MICROMed SEO SCAN light microscope and photo-documented using a Vision CCD Camera with a histological image output system.

Results. Microscopic studies have shown an interdependence between the duration of the experiment and abnormalities in the structural components of neurons in all layers of the cerebellar cortex. In the early stages of the experiment there are reactive changes, which are adaptive-compensatory in nature with initial destructive damage. On day 14, and especially after 21 days, polymorphism is observed, significant cell degeneration, manifested by pyknosis of the nuclei, the development of intra- and pericellular edema in neurons of the granular, ganglionic and granular layers of the cerebellar cortex.

рація клітин, що проявляється пікнозом ядер, виявляється розвиток інтра- та перичелюлярних набряків у нейронах зернистого, гангліонарного та зернистого шарів кори мозочка.

Висновки. Встановлено, що за умов експериментальної термічної травми відбувається реорганізація нейроцитів кори мозочка. На 1 і 7 добу досліджується зміна форми перикаріонів нейронів, гіперхромія ядер, внутрішньоклітинний набряк. У віддалені терміни відбувається наростання деструктивно-дегенеративних змін, що проявлялися вакуолізацією цитоплазми, ущільненням ядер та їх пікнозом, переважання гіперхромних та різко гіперхромних клітин Пуркінє, значною дезорганізацією та порушенням закономірної локалізації нейронів у всіх шарах кори мозочка.

Ключові слова: кора мозочка; нейроцити; клітини Пуркінє; термічна травма; мікроскопічні зміни.

ВСТУП

Термічна травма є стрес-чинником екзогенного походження [1, 3]. Безпосередньо, при ушкодженні шкірного покриву відбувається значна плазмоліз, зростає токсичність сироватки крові, що у результаті призводить до синдрому ендогенної інтоксикації [2, 4]. Згідно із дослідженнями, опікові токсини розносяться із кровотоком, викликають реактивні зміни в органах та системах організму [5–8]. Центральна нервова система виступає однією із провідних ланок відповіді на термічне ураження та сприймає надмірну больову імпульсацію. У результаті виникають морфологічні та функціональні зміни органів нервової системи, зокрема мозочка, який бере активну участь в процесах стрес-реактивності [9, 10]. Відбувається структурна перебудова нейроцитів, їх часткова загибель та дегенерація волокон. Вивчення морфофункціонального стану мозочка за умов різних станів і, зокрема термічної травми, залишається актуальним питанням у нейроморфології [11]. Зв'язок мозочка із багатьма відділами головного мозку і складна система обробки й аналізу інформації, яка поступає в його кору, роблять орган унікальним та багатофункціональним.

Метою дослідження було встановити перебіг мікроскопічної реорганізації нейроцитів кори мозочка у динаміці за умов експериментальної термічної травми шкіри.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводили на 24 статевозрілих білих щурах-самцях, яких утримували у стандартних умовах віварію на збалансованому харчовому раціоні. Догляд за тваринами та всі маніпуляції проводили відповідно до Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001), які є

Conclusions. It is established that under the conditions of experimental thermal trauma there is a reorganization of neurocytes of the cerebellar cortex. On day 1 and 7 of the experiment there is a change in the shape of the perikaryons of neurons, hyperchromia of the nuclei, intracellular edema. In the long term there is an increase in destructive-degenerative changes, manifested by vacuolation of the cytoplasm, compaction of nuclei and their pyknosis, the predominance of hyperchromic and sharply hyperchromic Purkinje cells, significant disorganization and violation of the regular localization of neurons in all layers of the cerebellar cortex.

Key words: cerebral cortex; neurocytes; Purkinje cells; thermal trauma; microscopic changes.

узгодженими з Європейською конвенцією про захист експериментальних тварин (Страсбург, 1986).

Опікову травму наносили мідними пластинами, нагрітими у кип'яченій воді до температури 97–100° на епільовану поверхню шкіри спини та бічних поверхонь тіла тварин під тіопентал-натрієвим наркозом протягом 15 с. Тварин декапітували на 1, 7, 14 та 21 доби, що згідно із сучасною класифікацією відповідає стадіям опікового шоку, ранньої та пізньої токсемії, септикотоксемії опікової хвороби. Забір матеріалу для мікроскопічного дослідження проводили згідно із загальноприйнятою методикою [14]. Шматочки мозочка фіксували в 96° етиловому спирті та 10 % нейтральному розчині формаліну, проводили дегідратацію у спиртах зростаючої концентрації, заливали у парафінові блоки. Для отримання напівтонких зрізів (1–2 мкм) шматочки тканини мозочка фіксували у 2,5 % розчині глютаральдегіду, постфіксували 1 % розчином тетраоксису осмію на фосфатному буфері. Подальшу обробку проводили згідно із загальноприйнятою методикою [14]. Напівтонкі зрізи, виготовлені на ультрамікромомі LKB-3, забарвлювали метиленовим синім. Гістологічні зрізи забарвлювали гематоксиліном та еозином, толудіновим синім за методом Ніссля та вивчали за допомогою світлового мікроскопа MICROmed SEO SCAN і фотодокументували за допомогою відеокамери Vision CCD Camera.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Гістологічні дослідження кори мозочка встановили, що на 1-шу добу після термічної травми більшість нейроцитів має збережену структуру, чітко диференційовані молекулярний, гангліонарний та зернистий шари кори мозочка. Зірчасті нейрони містять ядра, які мають не чіткі контури. Кошикоподібні нейроцити залягають у нижній третині молекулярного шару, мають полігональну форму. В деяких клітинах через

1 добу експерименту спостерігається незначний перицелюлярний набряк та зміна форми. Клітини Пуркінє гангліонарного шару розташовані однорядно, наявні нормохромні нейроцити, проте переважають гіпохромні із зменшенням розмірів грудочок субстанції Ніссля (рис. 1). Деякі нейрони мають незначні ознаки набряку та периферійного тигролізу. Гіпохромні клітини Пуркінє змінюють форму із грушеподібної на округлу із внутрішньоклітинним набряком, відростки на деяких ділянках просвілені та потовщені. У цитоплазмі ядра гіпохромні іноді ексцентрично зміщені, в ядерцях збільшені та ущільнені. Клітини-зерна щільно розташовані у зернистому шарі, у деяких відзначається зміна форми перикаріонів. Ядро таких нейроцитів чітко контуроване і займає центральне положення.

Через 7 діб експерименту встановлено наростання морфологічних змін у шарах кори мозочка. У нейроцитах присутні ознаки альтерації. Зірчасті та молекулярні клітини мають видовжену форму, їх ядра мають збережену структуру. Деякі нейроцити молекулярного шару характеризуються перицелюлярним набряком. В гангліонарному шарі виявляється порушення розташування нейронів у один ряд. Гетерогенність нейроцитів цього шару проявляється наявністю поодиноких нормохромних із збільшеними зміненої форми ядрами. Переважають нейроцити різко гіпохромні із тотальним тигролізом та відсутністю у нейроплазмі базофільної речовини. Спостерігається незначна кількість гіперхромних клітин Пуркінє, в яких за рахунок інтенсивного забарвлення цитоплазми, ядро і ядерце погано контуруються. Також визначаються різко гіперхромні нейрони, у яких нейроплазма і ядерні структури інтенсивно забарвлюються (рис. 2). У нейроцитах спостерігається перицелюлярний та внутрішньоклітинний набряк. Нейрони зернистого шару мають

дещо змінену форму, в яких також наявний інтра- та перицелюлярний набряк.

Мікроскопічні дослідження через 14 діб після експериментальної термічної травми встановили поліморфізм змін нейроцитів кори мозочка. У молекулярному шарі спостерігався перицелюлярний набряк зірчастих та кошикоподібних клітин. Їх перикаріони мали змінену форму, відростки дезорганізовані. Клітини Пуркінє гангліонарного шару в стані тигролізу, який у більшості носить тотальний характер. У нейроплазмі таких гіпохромних та різко гіпохромних клітин містилося мало, невеликих грудочок хроматофільної субстанції Ніссля або їх відсутність, що свідчить про виснаження нейроцитів. Також виявляється велика популяція гіперхромних та різко гіперхромних нейроцитів, що характеризувалися інтенсивно забарвленою нейроплазмою, перикаріони сплюсненої форми, їх відростки витончені або частково потовщені. Зазначені зміни, які виникають у нейронах, підтверджуються науковими даними дослідників [12] і пов'язують з ендогенною інтоксикацією, що виникає після тяжкої опікової травми. Наявні ділянки у гангліонарному шарі кори мозочка, де клітини Пуркінє розміщені щільно або значно розріджено. Зернистий шар втрачає свою структурованість нейроцитів, у більшості клітин-зерен наявні гіперхромні ядра, цитоплазма просвітлена, набрякла, вакуолізована (рис. 3). У цей термін досліджу зберігається перицелюлярний набряк.

На 21 добу досліджу виявлені значні деструктивні та дегенеративні зміни нейроцитів кори мозочка експериментальних тварин. Порушене пошарове розташування шарів. Спостерігається потовщення молекулярного шару, зірчасті та кошикоподібні клітини якого мають змінену форму із пікнотизованими, ущільненими ядрами, відзначається перицелюлярний набряк. Відзначається втрата однорядного розташування клітин Пуркінє в гангліонарному

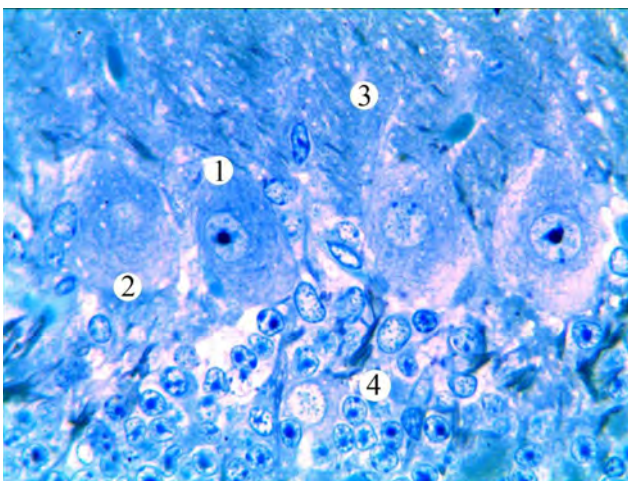


Рис. 1. Мікроскопічні зміни кори мозочка через 1 добу після експериментальної термічної травми: 1 – нормохромні та 2 – гіпохромні клітини Пуркінє, 3 – молекулярний шар, 4 – зернистий шар кори мозочка. Забарвлення метиленовим синім. x400.

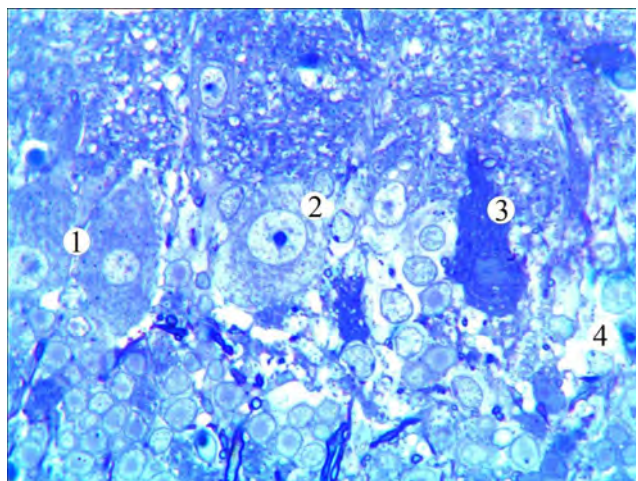


Рис. 2. Мікроскопічні зміни кори мозочка через 7 діб після експериментальної термічної травми: 1 – нормохромні, 2 – гіпохромні та 3 – гіперхромні клітини Пуркінє, 4 – перицелюлярний набряк клітин-зерен зернистого шару кори мозочка. Забарвлення метиленовим синім. x400.

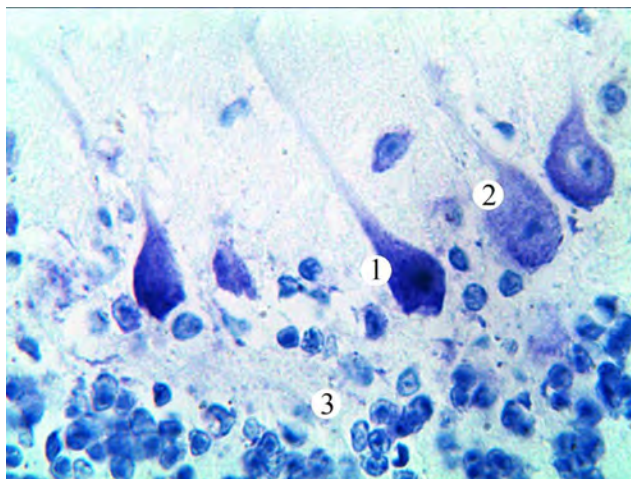
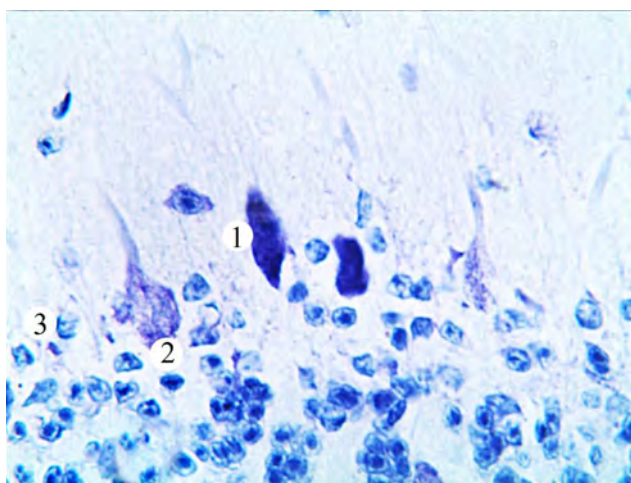
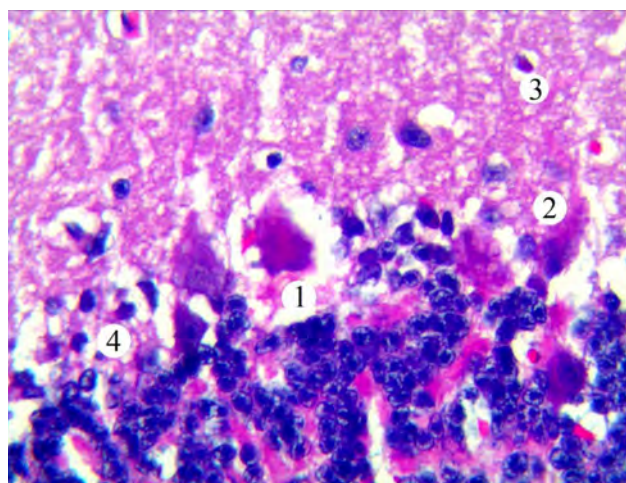


Рис. 3. Мікроскопічні зміни кори мозочка через 14 діб після експериментальної термічної травми: 1 – різко гіперхромні та 2 – гіпохромні клітини Пуркінє, 3 – розрідження зернистого шару. Забарвлення толуїдиновим синім за методом Нісля. x400.



A



Б

Рис. 4. Мікроскопічні зміни кори мозочка через 21 добу після експериментальної термічної травми:
А. 1 – різко гіперхромні та 2 – гіпохромні клітини Пуркінє, 3 – міграція клітин-зерен. Забарвлення толуїдиновим синім за методом Нісля. x400;
Б. 1 – гіперхромні й різко гіперхромні клітини Пуркінє, 2 – перичелюлярний набряк нейроцитів 3 – молекулярного і 4 – зернистого шарів кори мозочка. Забарвлення гематоксилином та еозином. x400.

ВИСНОВКИ

Встановлено, що у динаміці після експериментальної термічної травми мікроскопічні зміни в нейроцитах кори мозочка у ранні терміни носять пристосувально-компенсаторний характер та початкові деструктивні процеси на фоні ендогенної інтоксикації. Спостерігається поліморфізм клітин Пуркінє, який полягає у переважанні гіпохромних, різко гіпохромних та гіперхромних нейроцитів. У

пізні терміни порушення, які відбувалися у нейроцитах, носили незворотні деструктивні та дегенеративні зміни. Встановлено наростання інтра- та перичелюлярного набряку в усіх нейроцитах шарів кори мозочка. Підтвердженням незворотних порушень, які відбуваються в корі мозочка є наявність вакуолізованих «кулястих» клітини Пуркінє та клітин-«тіней».

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ye H. Thermal injury of skin and subcutaneous tissues: A review of experimental approaches and numerical models / H. Ye, S. De // *Burns*. – 2017. – Vol. 43 (5). – P. 909–932. DOI: 10.1016/j.burns.2016.11.014.
2. Ковальчук О. І. Патогенез опікової хвороби: сучасні аспекти / О. І. Ковальчук // *Наук. вісник НМУ ім. О.О. Богомольця*. – 2013. – № 2 (41). – С. 64–69.
3. Pruitt B. A. An historical perspective on advance in

burn care over the past 100 years / B. A. Pruitt, S. E. Wolf // Clin. Plast. Surg. 2009. – Vol. 36. – P. 527–545. DOI: 10.1016/j.cps.2009.05.007

4. Modelling early thermal injury using an ex vivo human skin model of contact burns / A. Liu, E. Ocotl, A. Karim [et al.] // Burns. – 2020. – Vol. 47 (3). – P. 611–620. DOI: 10.1016/j.burns.2020.08.011

5. Kramar S. B. Morphometric studies of the damaged skin area after experimental thermal trauma and during correction with cryo-lyophilized xenograft skin substrate / S. B. Kramar, K. S. Volkov, Z. M. Nebesna // Reports of Morphology. – 2018. – Vol. 24 (4). – P. 22–28. DOI: 10.31393/morphology-journal-2018-24(4)-03.

6. Крамар С. Б. Мікроскопічні та гістохімічні зміни шкіри після експериментальної термічної травми при застосуванні кріоліофілізованого ксенодермального субстрату / С. Б. Крамар, К. С. Волоков, С. О. Литвинюк // Вісник морфології. – 2015. – № 1(1). – С. 6–9.

7. Submicroscopic changes of the respiratory alveolar macrophages at the late period after experimental thermal injury and in combined use of lyophilized xenograft substrate and surfactant / Z. M. Nebesna, K. S. Volkov, P. Ya. Bodnar [et al.] // Світ біології та медицини. – 2018. – Т. 2 (64). – С. 165–169.

8. Особливості ультраструктурної реорганізації передсердних кардіоміоцитів при експериментальній термічній травмі та за умов застосування ліофілізованих ксенодермотрансплантатів / І. Б. Гетманюк, З. М. Небесна, П. Г. Лихацький, О. Я. Штурма // Вісник наукових досліджень. – 2019. – № 2(95). – С. 105–109. doi 10.11603/2415-8798.2019.2.10273.

9. Білаш С. М. Сучасні погляди на процеси ремоделювання структурних компонентів мозочка за умов дії комплексу хімічних речовин / С. М. Білаш, О. М. Проніна, Б. С. Кононов // Вісник проблем біології і медицини. – 2020. – № 1(155). – 20–25. doi: 10.29254/2077-4214-2020-1-155-20-25.

10. Coert J. H. Pathophysiology of nerve regeneration and nerve reconstruction in burned patients / J. H. Coert // Burns. – 2010. – Vol. 36 (5). – P. 593–598. DOI: 10.1016/j.burns.2009.10.007

11. Brain and cognitive impairments from burn injury in rats / M.-P. Halm, D. Poquin, P. Lestavel, [et al.] // Burns. – 2006. – Vol. 32 (5). – P. 570–576. DOI: 10.1016/j.burns.2005.12.005.

12. Lytvynuk S. O. Morphofunctional modifications of neurocytes of the rat hippocampal CA3 area after experimental thermal trauma / S. O. Lytvynuk // Neurophysiology. – 2016. – Vol. 48. – P. 399–406.

13. Бекеसेвич А. М. Морфологічні особливості структури кори мозочка щура в нормі та за умов тривалого впливу опію / А. М. Бекеसेвич // Запороз. мед. журн. – 2015. – № 3(90). – С. 82–85. doi:10.14739/2310-1210.2015.3.44505.

14. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський. – Житомир : Полісся, 2011. – 288 с.

REFERENCES

1. Ye H, De S. Thermal injury of skin and subcutaneous tissues: A review of experimental approaches and numerical models. Burns. 2017;43(5): 909-32. DOI: 10.1016/j.burns.2016.11.014.

2. Kovalchuk OI. [Aetiology of burn disease: modern aspects]. Nauk. visnyk NMU im. O.O. Bohomoltsia. 2013;2(41): 64-9. Ukrainian.

3. Pruitt BA, Wolf SE. An historical perspective on advance in burn care over the past 100 years. Clin Plast Surg. 2009;36: 527-45. DOI: 10.1016/j.cps.2009.05.007

4. Liu A, Ocotl E, Karim A, Wolf JJ, Cox BL, Eliceiri KW, et al. Modelling early thermal injury using an ex vivo human skin model of contact burns. Burns. 2020;47(3): 611-20. DOI: 10.1016/j.burns.2020.08.011

5. Kramar SB, Volkov KS, Lytvynuk SO. Morphometric studies of the damaged skin area after experimental thermal trauma and during correction with cryo-lyophilized xenograft skin substrate. Reports of Morphology. 2018;24(4): 22-8. DOI: 10.31393/morphology-journal-2018-24(4)-03.

6. Kramar SB, Volkov KS, Lytvynuk SO. [Microscopic and histochemical changes of the skin after experimental thermal trauma and application of cryo-lyophilized xenograft-skin substrate]. Visnyk morfolohii. 2015;1(1): 6-9. Ukrainian.

7. Nebesna ZM, Volkov KS, Bodnar PYa., Shuturma OYa., Kramar SB. Submicroscopic changes of the respiratory alveolar macrophages at the late period after experimental thermal injury and in combined use of lyophilized xenograft substrate and surfactant. World of Medicine and Biology. 2018;2(64): 165-9.

8. Getmanyuk IB, Nebesna ZM, Lykhatskyi PG, Shuturma OYa. [Peculiarities of atrial cardiomyocytes' ultrastructural reorganization at experimental thermal injury and in conditions of application of lyophilized xenograft substrate]. Visnyk naukovykh doslidzen. 2019;2(95): 105-9. doi 10.11603/2415-8798.2019.2.10273. Ukrainian.

9. Bilash SM, Pronina OM, Kononov BS. [Modern representations about processes of re-modeling of structural components of the cerebellum under conditions of action of the complex of chemicals]. Visnyk problem biolohii i medytyny. 2020;1(155): 20-5. DOI: 10.29254/2077-4214-2020-1-155-20-25. Ukrainian.

10. Coert JH. Pathophysiology of nerve regeneration and nerve reconstruction in burned patients. Burns. 2010;36(5): 593-8. DOI: 10.1016/j.burns.2009.10.007

11. Halm M-P, Poquin D, Lestavel P, Chancerelle Y, Graff C. Brain and cognitive impairments from burn injury in rats. Burns. 2006;32(5): 570-6. DOI: 10.1016/j.burns.2005.12.005.

12. Lytvynuk SO. Morphofunctional modifications of neurocytes of the rat hippocampal CA3 area after experimental thermal trauma. Neurophysiology. 2016;48: 399-406.

13. Bekesevych AM. [Morphological features of the structure of the cerebellar cortex of rats in the norm and under prolonged exposure to the opioid]. Zaporozh med zhurn. 2015;3(90): 82-85. doi:10.14739/2310-1210.2015.3.44505. Ukrainian.

14. Horalskyi LP, Khomych VT, Kononskyi OI. Fundamentals of histological technique and morphofunctional methods of research in normal and pathology. [Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології] Zhytomyr: Polissia; 2011. Ukrainian.

Отримано 06.03.21